

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Факультет хімії та фармації

Кафедра фармакології та технології ліків

Д и п л о м н а р о б о т а

Освітньо-кваліфікаційний рівень – Магістр

на тему: «Визначення сульфаніламідів, хлорамфеніколу та гідроксиметилфурфуролу високоефективною рідинною хроматографією з діодним затемненням в меду»

« Determination of sulfonamides, chloramphenicol and hydroxymethylfurfural by high performance liquid chromatography with diode darkening in honey»

Виконала: студентка 2 курсу

заочної форми навчання

Напрямок підготовки 102 Хімія

Освітньо-
кваліфікаційний рівень – Магістр

Дробот

Тетяна Олександрівна

Керівник к.б.н., доц..Радаєва І.М. _____

підпис

Рецензент _____

Рекомендовано до захисту: Захищено на засіданні екзаменаційної комісії

Протокол засідання кафедри №2 протокол №____ від _____ 2019 р.

№__ від «__» _____ 2019
р.

Оцінка _____ / _____ / _____

(за національною шкалою, шкалою ECTS,
бали)

Завідувач кафедри

Голова екзаменаційної комісії

_____ д.м.н., проф.Грицук

О.І.

(підпис)

_____ к.х.н., доц. Чеботарьов О.М.

(підпис)

Одеса – 2019

РЕФЕРАТ

Дипломна робота виконана на кафедрі фармакології та технології ліків Одеського національного університету імені І.І. Мечникова і присвячена визначенню сульфаніламідів та хлорамфеніколу високоефективною рідинною хроматографією з діодним затемненням та динаміці вмісту 5-гідроксиметилфурфуролу в меді різного ботанічного походження.

Мета дослідження: провести лабораторний контроль хлорамфеніколу, сульфаніламідів в меді методом високоефективної рідинної хроматографії у поєднанні з мас-спектрометрією та гідроксиметилфурфуролу шляхом спектрофотометрії.

Об'єкт дослідження: 25 зразків меду різного ботанічного походження.

Предмет дослідження: особливості лабораторного контролю залишкової кількості антибіотиків в меді на прикладі сульфаніламідів та хлорамфеніколу, фізико-хімічного показнику - 5-гідроксиметилфурфуролу.

Ключові слова: мед, сульфаніламід, хлорамфенікол, 5-гідроксиметилфурфурол, спектрофотометрія, високоефективна рідинна хроматографія.

Дипломна робота складається із вступу, двох розділів, висновків, що викладені на 71 сторінці; списку використаної літератури (52 джерел). Загальний обсяг дипломної роботи складає 81 сторінку комп'ютерного набору тексту.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	3
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	5
1.1. Мед як основний продукт бджільництва.....	5
1.2. Хімічний склад та біологічна активність меду.....	9
1.3. Аналіз вимог чинної нормативної документації щодо якості меду	20
1.4. Проблема якості та безпечності мед.....	22
1.5. Хлорамфенікол та сульфаніламідні антибіотики як основний фактор контамінації меду.....	27
1.6. Шляхи контамінації меду антибіотиками.....	33
1.7. Гідроксиметилфурфурол як показник фальсифікації меду.....	34
РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	38
2.1. Матеріали дослідження.....	38
2.2. Програмне забезпечення.....	39
2.3. Методи дослідження.....	39
2.4. Обговорення результатів.....	45
ВИСНОВКИ.....	63
ЛІТЕРАТУРА.....	65
ДОДАТКИ.....	71
ДОДАТОК А.....	71

ВСТУП

Актуальність теми: Нині сільське господарство залишається єдиною галуззю економіки України, яка має позитивне сальдо зовнішньої торгівлі.

Але частка повідомлень Європейської комісії, у системі швидкого оповіщення про харчові продукти та корми (RASFF), що стосується наявності залишків антибіотиків у продуктах бджільництва складає 70 %.

Вітчизняними вченими встановлено, що найчастіше у меді виявляють такі антибіотики, як стрептоміцин, тетрациклін і сульфаніламід. Разом з тим, згідно виконання Плану державного моніторингу за період з 2012 до 2019 року, включно, встановлено позитивні результати за вмістом хлорамфеніколу, нітрофуранів (AOZ, AMOZ, SEM) та сульфаметазину. Тому, наявність залишків антибіотиків у меді є нагальною проблемою для теоретичного вивчення та експериментального дослідження.

Крім того, протягом останніх років фармацевтична промисловість України значно розширила асортимент лікарських препаратів, більшість із яких являються ксенобіотиками. А, як відомо, синтетичні препарати мають значну кількість побічних ефектів на організм людини, тому в медицині виокремився окремий напрямок – апіфітотерапія.

Джерелами впливу на якість і безпеку продукції бджільництва можуть бути чинники природного навколишнього середовища сільськогосподарського виробництва, технології утримання бджолосімей, вид медоносних рослин тощо.

Тому обґрунтування використання окремих показників як критеріїв оцінки якості і безпеки меду є актуальним напрямком досліджень

Мета і завдання дослідження: визначити особливості лабораторного контролю залишкової кількості хлорамфеніколу, сульфаніламідів в меді методом високоефективної рідинної хроматографії у поєднанні з мас-спектромерією та фізико-хімічного показнику - гідроксиметилфурфуролу шляхом спектрофотометрії.

Реалізація мети дослідження передбачає необхідність виконання таких завдань:

- 1) на основі аналізу літературних джерел ознайомитися із проблемою визначення показників безпеки меду бджолиного та вимогами чинної нормативної документації щодо якості меду;
- 2) виокремити умови для зниження вмісту антибіотиків як фактору виробництва якісного меду;
- 3) обґрунтувати необхідність введення єдиних вимог до якості меду в Україні;
- 4) визначити вміст 5-гідроксиметилфурфуролу в меді різного ботанічного походження;
- 5) простежити динаміку зміни фізико-хімічного показнику ГМФу під впливом високої температури та різного часу зберігання проб;
- 6) виявити залежність між показником 5-гідроксиметилфурфуролу та натуральністю меду;
- 7) розглянути фактори, які спричиняють контамінацію меду антибіотиками;
- 8) здійснити лабораторний контроль залишкової кількості антибіотиків сульфаніламідної групи та хлорамфеніколу в меді різного ботанічного походження;
- 9) порівняти результати дослідження із вимогами, передбаченими ДСТУ 4497:2005 та Європейськими критеріями.

Об'єкт дослідження: 25зразків меду різного ботанічного походження.

Предмет дослідження: особливості лабораторного контролю залишкової кількості антибіотиків в меді на прикладі сульфаніламідів, хлорамфеніколу та фізико-хімічного показнику - 5-гідроксиметилфурфуролу.

Методи дослідження: високоефективна рідинна хроматографія LC/MS, спектрофотометрія, статистичний, метод швидкого екстрагування.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що проблема визначення показників безпеки меду бджолиного та вимогами законодавчої бази полягає в тому, що простежуються відмінності у нормуванні вмісту гідроксиметилфурфуролу, сульфаніламідних антибіотиків та хлорамфеніколу. Спектр контрольних протимікробних препаратів в ЄС відрізняється від тих, які контролюються в Україні;

2. За спаданням вмісту гідроксиметилфурфуролу зразки меду можна розташувати у наступному порядку: гречаний – соняшниковий – акацієвий – мед з різнотрав'я – липовий мед, що співпадає з водневим показником;

3. Виявлено перевищення вмісту гідроксиметилфурфуролу у в трьох зразках гречаного меду, вказує на вплив температурного фактору з метою декристалізації;

4. Залежність вмісту гідроксиметилфурфуролу від часу має вигляд вітки параболі. Встановлено, що допустимою температурою нагрівання меду є 60°C протягом однієї години для меду вищого гатунку і протягом двох годин для меду першого гатунку.

5. Приймаючи до уваги, що технологічні умови промислової обробки меду змінюють органолептичні властивості (колір, смак), гідроксиметилфурфурол можна вважати головним критерієм натуральності меду.

6. За результатами дослідження встановили, що присутність сульфаніламідів, хлорамфеніколу . 24% досліджених зразків не відповідають вимогам Міжнародного Кодексу (Codex Alimentarius) та Плану державного моніторингу для хлорамфеніколу, нітрофурану (АОЗ), флорфеніколу та неоміцину.

7. Частота зустрічності антибіотиків в досліджених зразках наступна (в порядку спадання): хлорамфенікол - сульфатіазол – сульфатрیمетопрін. Відсутність вмісту сульфаметазину може бути обумовлено дією Плану державного моніторингу вмісту хлорамфеніколу, нітрофуранів (AOZ, AMOZ, SEM).

8. Причинами виявлення антибіотиків в меді є комплексне лікування європейського, американського гнильцю, вароатозу, нозематозу бджіл та їх профілактика;

9. На основі аналізу літературних джерел було виявлено, що підвищити продуктивність бджіл можливо без використання антибіотиків шляхом створення нових селекційних ліній порід бджіл, раціональної організації кочівлі пасік, застосування адаптогенних препаратів;

10. Основними проблемами на шляху інтеграції ринку меду до європейського залишаються: низька експортна ціна на мед; погіршення екологічної ситуації, вирощування генно-модифікованих сільськогосподарських рослин, вживання яких приводить до непередбачуваних наслідків; широке і неконтрольоване використання пестицидів та інших хімічних засобів в агрономії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Хисматуллин Р. Г. Качество мёда европейских стран / Р. Г. Хисматуллин, Р. З. Кузьяев, Л. И. Леготкина. // Пищевая промышленность. – 2010. – №6. – С. 46 – 48.
2. Оцінювання меду за показниками якості відповідно до чинних нормативів / Солодова М. С. 8. Что такое гидрооксиметилфурфурол и чем он опасен? [Электронный ресурс] / М. С. Солодова // Справочник потребителя. – 1991. – Режим доступа до ресурсу: https://test.org.ua/usefulinfo/zdorovie_kosmetika/info/34.html.
3. Осинцева Л. А. Технология, показатели качества, безопасности и товароведная оценка меда / Л. А. Осинцева. – Новосибирск: Изд-во Новосибир. гос. аграр. ун-та, 2012. – 132 с.
4. Тихонов А. И. Мед натуральный в медицине и фармации (происхождение, свойства, применение, лекарственные препараты): Монография / А. И. Тихонов, С. А. Тихонова, Т. Г. Ярных. – Харьков: Оригинал, 2010. – 263 с.
5. Bogdanov S. Contaminants of bee products / Stefan Bogdanov. // EDP Sciences. – 2006. – №37. – P. 2 – 18.
6. Codex Standart For Honeve. Codex stan 12 – [Электронный ресурс] // Codex stan 12-1981. – 1981. – Режим доступу до ресурсу: http://www.google.com.ua/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=2ahUKEwix2O_y2MnmAhXukYsKHTD3AAMQFjACegQIARAC&url=http%3A%2F%2Fwww.fao.org%2Finput%2Fdownload%2Fstandards%2F310%2Fcxs_012e.pdf&usg=AOvVaw3hI7ctA_6AOfKsNEeQKlSn.
7. ДСТУ 4497:2005. Мед натуральний. Технічні умови;

8. Касянчук В. В. Ветеринарно-санітарнаекспертиза з основами технологіїпродуктівтваринництва. Підручник / В. В. Касянчук, П. В. Микитюк, Л. В. Олійник. – Вінниця: Нова Книга, 2007. – 480 с.
9. Заикина В. И. Экспертиза меда и способы обнаружения его фальсификации: Учебное пособие / В. И. Заикина. – Москва: Издательско-торговая корпорация «Дашков и К°», 2012. – 168 с.
10. Позняковский В. М. Экспертиза продуктов пчеловодства. Качество и безопасность: Учебник / В. М. Позняковский. – СПб: "Лань", 2017. – 384 с. – (2 е изд., испр. и доп.).
11. Младенов С. Мед и медолечение / Стоймир Младенов. – София: "Тодор Димитров", 1969. – 221 с.
12. Лебедев В. И. Слагаемые меда / В. И. Лебедев, Е. А. Мурашова. // Пчеловодство.. – 2004. – №4. – С. 12– 16.
13. Юдахина М. А. Пчеловодство: метод.указания / М. А. Юдахина. – Красноярск: Краснояр. гос. аграр. ун-т, 2016. – 59 с.
14. Хорн Х. Всё о мёде: производство, получение, экологическая чистота и сбыт: пер снем / Х. Хорн, К. Люльманн., 2007. – 316 с.
15. Кузьяев Р. З. Интерес к разработкам российских ученых / Р. З. Кузьяев. // Пчеловодство. – 2003. – №4. – С. 6– 8.
16. Чепурной И. П. Идентификация и фальсификация продовольственных товаров / И. П. Чепурной. – Москва: Дашков и К, 2008. – 460 с. – (4-е изд.).
17. Про бджільництво: закон Українивід 22.02.2000 № 1492-III//Верховна Рада України [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws>
18. Державний реєстр. [Державний реєстр пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні//Міністерство екології та природних ресурсів України. – 2007. - № 1328 .

19. Стандарт Комісії Кодекс Аліментаріус САС/RCP 1–1969 [Електронний ресурс]. – Режим доступу :<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codexhome/ru/>.
20. Якубчак О. М. Вимоги до безпеки та якості меду / О. М. Якубчак, А. В. Коновалова. // Ветеринарно-санітарнаекспертиза. Сучасні наукові розробки. – 2014. – №12. – С. 19–22.
21. Словарь-справочник по пчеловодству / [А. И. Черкасова, И. К. Давиденко, П. А. Губа и др.]. – Киев: "Урожай", 1991. – 416 с.
22. Пислар Г. В. Якість продукції бджільництва: світовий досвід та вітчизняна практика / Г. В. Пислар. – Житомир: Вид-во Житомирського національного агроекологічного університету, 2011. – 156 с.
23. Т. І.Білоцерківець, Н. О. Генгало, О. М. Михальська, Л. О. Адамчук // Бджільництво / Т. І.Білоцерківець, Н. О. Генгало, О. М. Михальська, Л. О. Адамчук. – Київ: Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва, 2015. – (Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України). – (Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва; кн. 223). – С. 52–57.
24. Міжнародні стандарти харчових продуктів[Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/ru/>.
25. Директива Ради 2001/110 Єс від 20 грудня 2001. Official Journal of the European Communities від 12.1.2002, L 10/47-52. - [Електронний-ресурс]. – Режим доступу до ресурсу: http://www.swaprural.org.ua/files/ua/food_safety/council_directive_2001_110.pdf
26. Ткачук// Ветеринарна медицина, якість і безпекапродукціїтваринництва. – 2019. – №1 (77). – С. 2 – 9.
27. Determination of the content of antibiotics and sulfanilamide drugs in honey by screening method / E. V.Bayer, Y. N. Novozhitskaya, L. V. Shevchenko, V. M. Mykhalska. // Ukrainian Journal of Ecology. – 2017. – №7. – P. 576–582.
28. Балашова // ООО"Аналитический центр Апис". – 2012. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.apeworld.ru/1345707763.html>.

29. Рут А. И. Энциклопедия пчеловодства / А. И. Рут, Э. Р. Рут, Х. Х. Рут. – Москва: Худож. лит. и МП «Брат», 1998. – 363 с.
30. Амелин В. Г. Особенности определения остаточных количеств хлорамфеникола и тетрациклинов в пищевых продуктах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии/квадруполь-времяпролетной масс-спектрометрии высокого разрешения / В. Г. Амелин, Н. М. Федина, А. И. Коротков. // Масс-Спектрометрия. – 2016. – №13. – С. 3 – 9.
31. Гол. держ. інспектор ветмедицини; Наказ від 30.01.2001 № 9 «Про затвердження Інструкції щодо попередження та ліквідації хвороб і отруень бджіл». <http://zakon5.rada.gov.ua/laws/show/z0131-01>.
32. Isenberg S. J. The fall and rise of chloramphenicol / S. J. Isenberg. // J. AAPOS. – 2003. – №7. – P. 307.
33. Кнунянц И. В. Химическая энциклопедия / И. В. Кнунянц. – Москва: Советская энциклопедия, 1988. – 623 с.
34. Мягка К. С. Залишки антибіотиків у меді з липи за різних термінів його зберігання та способів обробки бджолиних вуликів / К. С. Мягка, С. А. Определение антибиотиков (левомицитина и тетрациклина в пищевых продуктах различными матрицами / [Л. И. Соколова, К. О. Белюстова, Ю. О. Пивар та ін.]. // Научно-производственный журнал «Техника и технология пищевых производств». – 2015. – №5. – С. 146–151.
35. Gunes M. Oxytetracycline and sulphonomide residues analysis of honey samples from southern Marmara region in Turkey / M. Gunes, N. Gunes, R. Cibik. // Bulgarian Journal of Agricultural Science. – 2009. – №15. – С. 163 – 167.
36. Galarini R. Multiclass determination of 27 antibiotics in honey / R. Galarini, G. Saluti, D. Giusepponi. // Food Control. – 2015. – №48. – P. 12–24.
37. Meissner H. C. The current status of chloramphenicol / H. C. Meissner, A. L. Smith. // Pediatrics. – 1979. – №3. – С. 348–356.
38. Взаємодія сульфаніламідів із барвниками різних класів / М. Бойко, Т. Врублевська, О. Коркуна, Г. Тесляр. // Хем. Біохем. – 2011. – №28. – С. 7–18.

39. Wang S. A direct competitive assay-based aptasensor for sensitive determination of tetracycline residue in honey / S. Wang, G. Liu, W. Yong. // *Talanta*. – 2014. – №131. – С. 562–569.
40. Коваленко Л. И. Методы терапевтической помощи животным. - Краткий справочник / Л. И. Коваленко. – Киев: Урожай, 1991. – 208 с.
41. Литвин В. П. Болезни молодняка сельськогосподарських тварин. Справочник / В. П. Литвин, В. И. Береза, В. Г. Скибицкий. – Киев: Урожай, 1992. – 168 с.
42. Emerging antibiotic resistance in honey as a hazard for human health / [E. Bezirtzoglou, C. Voidarou, E. Stavropouloutain.]. // *Journal of Bacteriology & Mycology: Open Access*. – 2016. – №2. – P. 6 – 12.
43. Kasprzak S. Pszczoły a leki / S. Kasprzak, A. Hartwig. // «*Pszczelarstwo*». – 2005. – С. 12– 15.
44. Barganska Z. Determination of antibiotic residues / Z. Barganska, M. Slebioda, J. Namiesnik. // 7. – 2011. – №30. – P. 1035 – 1041.
45. Викуль С. И. Антибиотики в меде – пути попадания, характеристика и особенности определения / С. И. Викуль. // "Напитки. Технологии И Инновации". – 2016. – №1. – С. 46 – 48.
46. Influence of the time/temperature binominal of the hydroxymethylfurfural content of floral honeys subjected to heat treatment / [R. de Oliveira ResendeRibeiro, C. Carneiro, E. Mársicotain.]. // 2. – 2012. – №36. – С. 204 –209.
47. Выявление фальсификации меда путем определения содержания 5-гидроксиметилфурфурола / [П. А. Наливайко, Р. А. Юрченко, А. Ф. Винарский и др.]. // "Новые химико-фармацевтические технологии-2012". – 2012. – №32. – С. 49 – 52.
48. Kunz M. Hydroxymethyl Furfural, a possiple basic chemical industrial intermediate / M. Kunz. // *Studies in Plant sciense, Inulin and Inulin Containing Crops*. – 1993. – №3. – P. 149–150.

49. Stolker A. Stolker A.A.M., Brinkman U.A.Th. Analytical strategies for / A. Stolker, U. Brinkman. // Chromatogr. – 2005. – №1. – С. 15–53.
50. Чепурной И. П. Так ли опасен ОМФ? [Электронный ресурс] / И. П. Чепурной // Мир пчеловодства. – 1981. – Режим доступа до ресурсу: http://pergoff.ru/stat/med_p/tak_li_opasen_omf_.html.
51. Киселев Н. А. Коварный ядовитый мед / Н. А. Киселев. // Пчеловодство. – 1997. – №4. – С. 17–18.
52. Фарамазян А. С. . Пора позаботиться о чистоте мёда / А. С. Фарамазян, Б. А. Угринович. // «Пчеловодство». – №9. – С. 5–7.